

Comparação na avaliação microbiológica de dois desinfetantes de uso doméstico no Brasil pelos métodos recomendados pela AOAC e ECN

Comparing the microbiological evaluation of two domestic-use disinfectants in Brazil by AOAC and ECN recommended methods

Rodrigo Rollin Pinheiro^{1,*}

Bruna Peres Sabagh¹

Aline da Silva Soares Souto¹

Daniella Cristina Rodrigues Pereira¹

Marta de Campos Neves¹

Maria Helena Simões Villas Boas¹

RESUMO

Os produtos desinfetantes para superfícies são considerados uma ferramenta da população para prevenção de infecções de natureza domiciliar. Modificações na legislação brasileira em 2007 permitiram a utilização de diferentes metodologias para a avaliação da qualidade microbiológica desses produtos, resultando na necessidade de um maior conhecimento em relação ao comportamento e aplicação de outras metodologias, como as preconizadas pelo Comitê Europeu de Normalização (CEN). Esse trabalho teve como objetivo estabelecer um estudo piloto da aplicação das metodologias do CEN em desinfetantes de uso geral. Foram utilizadas, em paralelo, a metodologia da Diluição de Uso (DU) preconizada pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) e a norma EUROPEAN STANDARD 1276 do CEN, utilizando dois produtos à base de quaternário de amônio (produtos A e B) e o álcool etílico 70% como controle, frente aos micro-organismos de referência e duas amostras de *E. cloacae* isoladas de ambiente domiciliar. Pela DU, todos os produtos foram eficazes, com exceção do produto B frente a *Staphylococcus aureus* cujos resultados não foram reprodutíveis. Pelo método do CEN, todos os produtos foram eficazes, com exceção do produto A frente a *S. aureus*, cuja neutralização não foi adequada. A divergência de resultados obtidos para os dois produtos à base de quaternários de amônio evidencia a necessidade de continuidade na avaliação das duas técnicas, com um maior número de produtos comerciais, considerando a potencialidade do uso do CEN no país.

PALAVRAS-CHAVE: Método da Diluição de Uso; Comitê Europeu de Normalização; Desinfetantes; Atividade Antimicrobiana

ABSTRACT

Surface disinfectants are considered a major tool for preventing the spread of infections in human populations. Changes in the Brazilian law in 2007 allowed the use of various methodologies to evaluate the microbiological quality of surface disinfectants, warranting studies of the efficacy and application of other methodologies, such as those recommended by European Committee of Normalization (ECN). The present study aimed to establish the application of ECN methodologies for assessment of general use disinfectants. The use-dilution (UD) method recommended by the *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) and the European Standard 1276 from ECN were performed in parallel, and the anti-microbial actions of two quaternary ammonium compounds (products A and B) and 70% ethanol solution were compared using reference microorganisms and two strains isolated from household environments. According to the UD method, all products were effective, except that product B was ineffective against *Staphylococcus aureus* and gave non-reproducible results. The ECN method indicated that all products were effective, except that product A produced inadequate neutralization of *S. aureus*. Although the ECN method showed efficacy and applicability to the Brazilian routine, assays with greater number of products are required.

¹ Departamento de Microbiologia, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz INCQS/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

* E-mail: rodrigorollin@gmail.com

Recebido: 24 abr 2014

Aprovado: 06 nov 2014

KEYWORDS: Use-Dilution Method; European Committee of Normalization; Disinfectants; Antimicrobial Activity



INTRODUÇÃO

Micro-organismos estão amplamente distribuídos por diversos ambientes, como locais de livre circulação¹ e domicílios². No ambiente domiciliar, sabe-se que bactérias como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* são frequentemente encontradas, principalmente em cozinhas e banheiros². Da mesma forma, em ambientes públicos, como transportes, banheiros públicos e de centros comerciais micro-organismos patogênicos estão presentes¹.

Assim, a população em geral está em constante exposição a diversos patógenos, levando a ocorrência frequente de infecções na população. Aproximadamente 1,8 milhões de mortes de crianças são associadas a doenças de origem alimentar, principalmente em países em desenvolvimento³. Adicionalmente, micro-organismos patogênicos responsáveis por diarreias são isolados do ambiente residencial^{4,5,6}, dentre eles *Campylobacter jejuni*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* não tifóide e *S. aureus*, sendo responsáveis por 76 milhões de casos, 325 mil hospitalizações e 5 mil mortes anuais nos Estados Unidos⁷. De acordo com Kagan, Aiello e Larson (2002), até 60% da transmissão de doenças infecciosas ocorrem dentro do ambiente domiciliar onde um dos membros da família está doente⁹. Assim, a transmissão de doenças infecciosas, seja no ambiente domiciliar ou público, está diretamente ligada à presença de patógenos em superfícies com as quais a população pode entrar em contato diretamente e/ou através do contato indireto pela utilização de alimentos manipulados nas mesmas⁸.

Nesse contexto, os produtos desinfetantes, utilizados na desinfecção de superfícies, desempenham um importante papel na prevenção de infecções¹⁰. Dessa forma, se faz necessário o controle da qualidade desses produtos dispostos à venda não somente no mercado brasileiro, mas também em diversos países. Essa demanda se intensificou após a globalização, que possibilitou a livre circulação de diversos produtos, inclusive aqueles de interesse para saúde, entre os países do globo. A utilização de produtos desinfetantes que não sejam eficazes em eliminar os micro-organismos nos locais de aplicação, como superfícies em residências e locais públicos pode resultar na maior exposição da população a patógenos e, conseqüentemente, elevar os riscos de surtos na comunidade¹¹.

Existem vários métodos de avaliação da atividade antimicrobiana dos produtos desinfetantes descritos em compêndios oficiais. No Brasil, até 2007 a legislação em vigor (Portaria nº 15, de 23 de agosto de 1988) preconizava que a avaliação da qualidade de desinfetantes de uso geral, em relação à atividade antimicrobiana, para fins de registro de produtos junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária fosse realizada apenas por metodologia preconizada pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC)¹². Entretanto, com o estabelecimento do Mercado Comum do Sul (Mercosul), que possibilitou o livre comércio de produtos entre alguns países da América do Sul, ocorreu a necessidade de harmonização da legislação vigente que seria seguida por todos os países do Mercosul¹³. A nova realidade comercial impõe-se, associada à realidade de novos produtos e fabricantes, adequações

na legislação brasileira, visando à ampliação das metodologias utilizadas para avaliação dos desinfetantes de superfície visando registro junto à ANVISA. Em substituição à antiga Portaria nº 15 foi elaborada a RDC nº 14, de 28 de fevereiro de 2007, que contempla, além das metodologias da AOAC, também aquelas preconizadas pelo Comitê Europeu de Normalização (CEN) para a avaliação da atividade antimicrobiana de produtos desinfetantes¹⁴.

Todavia, a abertura na legislação da permissão de uso de um número maior de metodologias, vem gerando sérios problemas de adaptação nos laboratórios brasileiros, uma vez que a literatura é carente de informações técnicas a respeito das metodologias do CEN. Assim, pouco é sabido sobre detalhes de implantação, comportamento e as possíveis diferenças em relação à avaliação da eficácia desses produtos que podem ocorrer pela utilização da metodologia do CEN em paralelo com as da AOAC. Com isso, o presente trabalho vem como um estudo piloto, com o objetivo de gerar mais informações a respeito das novas técnicas que passaram a serem aceitas no Brasil. Adicionalmente, foram utilizadas duas amostras de ambiente isoladas de uma residência, permitindo uma avaliação mais próxima da realidade quando da utilização do produto.

METODOLOGIA

Foi realizada uma avaliação em paralelo da atividade bactericida de produtos desinfetantes, através de metodologias preconizadas pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) e pelo Comitê Europeu de Normalização (CEN). Para realização das metodologias, foram adquiridos no mercado brasileiro dois produtos desinfetantes (A e B) à base de quaternários de amônio, destinados a serem empregados para uso geral (domiciliar e institucional) e álcool etílico a 70%, preparado no próprio laboratório. No método da Diluição de Uso (DU)¹⁵ da AOAC foram utilizadas as cepas de referência da *American Type Culture Collection* (ATCC) de *S. aureus* 6538 e *S. enterica* 10708.

A partir das culturas estocadas foram realizados quatro repiques consecutivos, que foram incubados a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24 horas, em 10 mL de caldo nutriente. O 4º repique, utilizado no ensaio, foi incubado por 48h seguindo-se a agitação das culturas teste, que foram reunidas e distribuídas em alíquotas de 20 mL em três tubos de ensaio. Os 22 cilindros carreadores de aço inox foram transferidos para cada um dos três tubos da cultura teste, onde permaneceram submersos por 15 minutos à temperatura ambiente. Após esse tempo de contato, foram cuidadosamente dispostos verticalmente em duas placas de Petri forradas com duas folhas de papel de filtro Whatman nº 2, e as placas foram mantidas a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 40 minutos. Cada um dos cilindros foi transferido asépticamente e cronometradamente, com intervalo de 30 segundos, para cada um dos 20 tubos contendo 10 mL do produto à temperatura de 20°C . Após o tempo de contato de 10 minutos, os cilindros foram transferidos para 20 tubos contendo 10 mL de caldo nutriente. Após 30 minutos, a contar da transferência do último cilindro para o tubo com o



caldo nutriente, estes foram novamente transferidos para tubos contendo 10 mL do mesmo meio de subcultura e o total de 40 tubos de meio de cultura foi incubado a $36 \pm 1^\circ\text{C}$ por 48 horas. Esse procedimento foi realizado em três baterias de 20 cilindros cada, perfazendo um total de 60 cilindros de aço inoxidável e 120 tubos contendo o meio de subcultura. Para realização de cada ensaio foram realizados controles de esterilidade do meio de subcultura, da água purificada, dos lotes de pipetas e dos cilindros carregadores, além da viabilidade do meio de cultura. Para leitura do ensaio foi observada a ausência ou a presença de crescimento através da turvação do meio de cultura. O produto é considerado aprovado quando apresenta atividade bactericida para o micro-organismo teste em 59 dos 60 cilindros utilizados.

Para o teste em suspensão quantitativo, para avaliação da atividade bactericida básica de desinfetantes químicos e antissépticos usados em áreas alimentícia, industrial, doméstica e institucional - fase 2, etapa 1 do CEN¹⁶, foram utilizadas as cepas de referência do ATCC de *S. aureus* 6538, *P. aeruginosa* 15442, *E. coli* 10536 e *Enterococcus hirae* ATCC 10541¹⁷. Para a obtenção da cultura teste foram realizados dois repiques consecutivos em meio TSA inclinado, com incubação por 24 h a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. A partir do crescimento no 2º repique, foi realizado um sub-cultivo para um tubo contendo 15 mL de solução diluente e 5 g de pérolas de vidro. Essa suspensão foi agitada a 1.000 rpm por três minutos (cinco minutos para a cepa de *P. aeruginosa*).

A partir da suspensão inicial (N) a ser utilizada como inóculo, alíquotas de 3 mL foram retiradas e padronizadas quanto a densidade ótica (DO) com auxílio de espectrofotômetro, seguindo-se de diluição seriada de 10^{-1} a 10^{-7} . As diluições 10^{-6} e 10^{-7} foram plaqueadas em meio TSA para a contagem da suspensão inicial. Para os controles, foi preparada uma suspensão de validação (Nv), transferindo 2 mL da diluição 10^{-5} para um tubo contendo 6 mL de solução diluente (proporção 1:3). Para a contagem em placa da suspensão de validação, foi realizada uma diluição 10^{-1} . No ensaio propriamente dito foi utilizado um mL da suspensão teste (N), que foi transferido para um tubo contendo 1 mL de soro albumina bovina (BSA) 3% e após dois minutos, 8 mL do produto comercial teste foram adicionados ao tubo. Após 10 minutos de contato 1 mL da mistura foi transferida para um tubo contendo 1 mL de água e 8 mL de solução neutralizante, mantendo-se por 5 minutos. A seguir, 1 mL da mistura foi plaqueada em duplicata em meio TSA adicionado com a mesma solução de neutralizante. As placas foram incubadas por 24 h a $36 \pm 1^\circ\text{C}$. Todo o procedimento foi realizado em banho de água a 20°C . Foi utilizada como solução neutralizante para os produtos A e B uma mistura composta por polissorbato 80 (36 g/L), lecitina (3,6 g/L), tiosulfato de sódio (6 g/L) e L-histidina (1,2 g/L). No caso do produto álcool etílico 70%, a solução neutralizante foi substituída por água purificada, já que o mesmo não possui efeito residual. Foram realizados três controles do ensaio, como preconizado pela metodologia: controle do micro-organismo (A), controle do micro-organismo frente ao neutralizante (B) e controle da neutralização (C).

Esse procedimento foi realizado em triplicata para cada produto desinfetante empregado no estudo na concentração

recomendada pelo fabricante. Para a avaliação do produto à base de álcool etílico, este foi utilizado a 70% (concentração de uso). Os produtos foram considerados satisfatórios quando causaram redução maior ou igual a 5 log do crescimento microbiano inicial. Além das cepas da ATCC, foram utilizadas nas duas metodologias duas isoladas de domicílio (cozinha e banheiro) de uma mesma residência, que foram identificadas através de bacterioscopia pelo método de Gram e pelo equipamento VITEK 2 (bioMérieux) pelo uso do cartão de identificação GN.

RESULTADOS

Pelo Método da Diluição de Uso, o produto A e a solução de álcool etílico 70% foram eficazes em eliminar os micro-organismos em pelo menos 59 dos 60 cilindros, sendo considerados satisfatórios (Tabela 1). Entretanto, o produto B não foi eficaz em eliminar *S. aureus* em pelo menos 59 dos 60 cilindros em 2 dos 3 ensaios realizados, sendo considerado insatisfatório pela metodologia (Tabela 1). Todos os controles realizados apresentaram-se dentro dos padrões recomendados pelo método.

Pela metodologia do CEN, o inóculo a ser utilizado nos ensaios deve estar entre $1,5 - 5,0 \times 10^8$ UFC/mL. Para padronizar essa faixa na prática, foi adotada, para cada micro-organismo, uma relação entre densidade ótica (leitura em espectrofotômetro - DO) e contagem de colônias em placas (unidades formadoras de colônia - UFC), obtendo-se uma faixa de DO a qual correspondesse à faixa acima. Todas as leituras de DO foram feitas no comprimento de onda de 630 nm, sendo estabelecida entre 0,150 a 0,200 para todas as cepas utilizadas nos ensaios, menos para *S. aureus* cuja faixa de DO empregada ficou entre 0,200 e 0,300. Seguindo a norma do CEN, o produto álcool etílico 70% e o produto B foram capazes de reduzir em pelo menos 5 log o crescimento microbiano inicial (Tabela 2). Esses resultados, segundo a norma EN 1276, permitem considerar os produtos satisfatórios frente aos micro-organismos utilizados.

Tabela 1. Número de cilindros que apresentaram crescimento nos ensaios pelo método da Diluição de Uso.

Micro-organismos	Total de Carreadores Positivos		
	Álcool Etilíco 70%	Produto A (Produto Puro)	Produto B (5%)
<i>S. aureus</i>	1	0	13*
<i>S. enterica</i>	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (Isolado da cozinha)	0	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i> (Isolado do banheiro)	0	0	0

* número de cilindros apresentando crescimento de *S. aureus* após cada ensaio realizado. Foram realizados três ensaios com *S. aureus* devido à divergência dos resultados.



Tabela 2. Redução do crescimento microbiano inicial pelo produto álcool etílico (média dos três ensaios).

Micro-organismos	Resultados da redução do número de micro-organismos de acordo com os produtos utilizados		
	Álcool Etilico 70%	A (Produto Puro)	B (5%)
<i>S. aureus</i>	> 5,22 log	ND*	> 5,33 log
<i>P. aeruginosa</i>	> 5,24 log	> 5,39 log	> 5,39 log
<i>E. coli</i>	> 5,3 log	> 5,41 log	> 5,41 log
<i>E. hirae</i>	> 5,19 log	> 5,36 log	> 5,36 log
<i>Enterobacter cloacae</i> (Isolado da cozinha)	> 5,28 log	> 5,41 log	> 5,41 log
<i>Enterobacter cloacae</i> (Isolado do banheiro)	> 5,26 log	> 5,4 log	> 5,4 log

*ND = não determinado, pois não foi possível neutralizar o produto frente a *S. aureus* com as soluções utilizadas nesse trabalho.

Da mesma forma, o produto A foi capaz de reduzir em 5 log o inóculo microbiano inicial quando da utilização na diluição recomendada pelo fabricante. Entretanto, frente à cepa de *S. aureus*, os resultados encontrados não foram conclusivos, uma vez que a solução neutralizante utilizada não foi capaz de neutralizar o produto frente a esse micro-organismo (Tabela 2).

DISCUSSÃO

Foi proposta uma abordagem desenvolvida pelo “International Scientific Forum on Home Hygiene” (IFH) baseada no manejo do risco e na identificação de pontos críticos de controle para prevenir a disseminação de doenças infecciosas no ambiente domiciliar¹⁸. Essa abordagem sugere que patógenos são introduzidos continuamente no ambiente domiciliar, através de pessoas, alimentos, animais domésticos, água e ar. Assim, sítios e superfícies que entrem em contato com essas fontes de patógenos, se tornam um reservatório secundário de infecção¹⁹.

Nesse contexto, os produtos desinfetantes apresentam grande importância na desinfecção dessas superfícies e controle do risco de infecção no ambiente domiciliar. Por isso, a avaliação da atividade antimicrobiana desses produtos é fundamental para o controle da qualidade dos produtos desinfetantes existentes no mercado brasileiro.

Os resultados obtidos em nosso estudo pelo emprego do método da Diluição de Uso, método utilizado rotineiramente pelos laboratórios brasileiros de controle da qualidade de produtos desinfetantes, demonstram que para o produto B não ocorreu reprodutibilidade de resultados frente a *S. aureus*. Essa variabilidade nos resultados pode estar relacionada à falta de padronização do número de células microbianas nos cilindros carreadores²⁰. Estudos já demonstraram problemas na reprodutibilidade da DU, onde a variação dos resultados para um mesmo produto é considerada alta²¹. Por isso, na última revisão das normas da AOAC, foi introduzida uma etapa que remete a contagem das bactérias viáveis nos cilindros carreadores, como um controle adicional do ensaio. Nessa etapa,

um cilindro contaminado e seco, é escolhido aleatoriamente e adicionado a um tubo contendo caldo Lethen. Esse tubo com o cilindro é submetido à sonicação e, após agitação, alíquotas são retiradas, diluídas e plaqueadas para a contagem das células viáveis²². A introdução dessa etapa confere maior segurança em relação à carga microbiana.

Diferentemente do encontrado pelo método da DU, onde o produto B apresentou variação nos resultados frente a *S. aureus*, no método preconizado pelo CEN, o produto B apresentou resultados reprodutíveis. Por sua vez, o produto A apresentou resultados inconclusivos frente ao mesmo micro-organismo teste, uma vez que a neutralização do produto não ocorreu de forma satisfatória. A neutralização é uma etapa de grande importância na metodologia do CEN, uma vez que sem ela o produto agiria por mais tempo do que o recomendado, podendo gerar resultados falso positivos. Por isso para o produto A, é necessário que sejam testados outros neutralizantes. Esses resultados indicam que a escolha de uma solução neutralizante adequada para cada produto a ser analisado seja uma etapa essencial, uma vez que a falha no controle da neutralização invalida todo o ensaio. Essa questão ganha mais atenção pelo fato da solução neutralizante ser utilizada de forma isolada e não associada ao meio de cultura como ocorre na DU. Por isso, a definição do tempo de neutralização e da concentração e/ou composição do neutralizante é essencial para o sucesso da metodologia preconizada pelo CEN. Em nosso trabalho foi observada falha na neutralização apenas para os ensaios onde foi usado o micro-organismo teste *S. aureus*. Esses resultados indicam que a escolha da solução neutralizante precisa levar em consideração não apenas o produto a ser testado, mas também o micro-organismo envolvido, de forma a não deixar nenhum resíduo que possa interferir no crescimento microbiano e inviabilizar o ensaio.

Em relação ao álcool etílico 70%, este foi escolhido devido à sua eficácia ser amplamente conhecida como desinfetante e antisséptico²³. De fato, em todos os ensaios realizados, tanto pela metodologia preconizada pela AOAC como pelo método do CEN, este produto apresentou resultados satisfatórios para todos os micro-organismos testados, comprovando sua eficácia como desinfetante em metodologias quantitativas e qualitativas, em suspensão ou em superfície. Por outro lado, a solução de álcool etílico 70%, por exemplo, comprovou sua eficácia pelos dois métodos.

Além disso, nesse trabalho, foram utilizadas duas amostras recuperadas de ambiente domiciliar, a fim de avaliar o comportamento das metodologias e dos produtos frente a esses micro-organismos. As amostras foram coletadas de uma mesma residência e, de acordo com a identificação das amostras pelo equipamento VITEK 2, pertenciam à espécie *Enterobacter cloacae*. Nos ensaios de avaliação da atividade antimicrobiana, elas foram eliminadas pelos três produtos.

Quando é discutida a aplicação prática das metodologias da AOAC e do CEN, deve ser observado que os resultados referentes à avaliação da atividade antimicrobiana pelos laboratórios



poderia ser mais rápida, caso a DU fosse empregada, uma vez que para desinfetantes de uso geral são preconizados dois micro-organismos de referência, enquanto pela metodologia do CEN quatro micro-organismos de referência. Além disso, pelo CEN cada ensaio deve ser realizado pelo menos 6 vezes/micro-organismo para fins estatísticos, totalizando 24 ensaios para a avaliação de um único produto. Assim, considerando-se a rotina dos laboratórios, a metodologia preconizada pelo CEN demanda em maior gasto não só de material e força de trabalho, mas também de tempo.

Os resultados apresentados pela metodologia do CEN são ainda restritos, pois foram obtidos apenas com produtos cujo princípio ativo era à base de amônio quaternário e álcool. Novos ensaios devem ser realizados com o objetivo de verificar sua aplicação associada a produtos contendo outros tipos de princípios ativos como fenóis, aldeídos ou peróxidos. Porém é essencial que os laboratórios de controle de qualidade de saneantes brasileiros possam executar a metodologia do CEN, visando à manutenção da qualidade dos produtos comercializados no Brasil.

CONCLUSÃO

Os dados apresentados no presente trabalho mostram resultados promissores da utilização da metodologia preconizada pelo CEN para a avaliação em suspensão da atividade antimicrobiana de desinfetantes de uso geral. Entretanto, a continuação do estudo se mostra essencial, com o intuito de ampliar as avaliações da metodologia para a obtenção de dados mais concretos. Para isso, se faz necessária a utilização de outros princípios ativos presentes no mercado brasileiro para que se tenha um conhecimento mais amplo do comportamento dessa metodologia frente aos produtos encontrados no nosso país. Além disso, novos estudos são necessários para elucidar a dificuldade da neutralização, principalmente frente à cepa de referência de *S. aureus*. Como comentado, a escolha da solução neutralizante é uma etapa essencial para a viabilidade dos ensaios e deve levar em consideração diversos fatores, como a concentração da solução, o micro-organismo teste e o produto a ser testado. Assim, novos estudos são de extrema importância para o maior conhecimento das etapas da metodologia e sua aplicação.

REFERÊNCIAS

1. Reynolds KA, Watt PM, Boone SA, Gerba CP. Occurrence of bacteria and biochemical markers on public surfaces. *Int J Environ Health Res.* 2005;15(3):225-234. <http://dx.doi.org/10.1080/09603120500115298>
2. Ojima M, Toshima Y, Koya E, Ara K, Tokuda H, Kawai S et al. Hygiene measures considering actual distributions of microorganisms in Japanese households. *J Appl Microbiol.* 2002;93(5):800-9. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01746.x>
3. World Health Organization – WHO. Foodborne disease outbreaks: guidelines for investigation and control. Geneva: World Health Organization; 2008.
4. Scallan E, Majowicz SE, Hall G, Banerjee A, Bowman CL, Daly L et al. Prevalence of diarrhoea in the community in Australia, Canada, Ireland, and the United States. *Int J Epidemiol.* 2005;34(2):454-60. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyh413>
5. Allos BM, Moore MR, Griffin PM, Tauxe RV. Surveillance for sporadic foodborne disease in the 21st century: the FoodNet perspective. *Clin Infect Dis.* 2004;38(Suppl 3):S115-20. <http://dx.doi.org/10.1086/381577>
6. Scott E. Foodborne disease and other hygiene issues in the home. *J Appl Bacteriol.* 1996;80(1):5-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.1996.tb03181.x>
7. Imhoff B, Morse D, Shiferaw M, Vugia D, Lance-Parker S, Hadler J et al. Burden of self-reported acute diarrheal illness in FoodNet surveillance areas, 1998-1999. *Clin Infect Dis.* 2004;38(Suppl 3):S219-26. <http://dx.doi.org/10.1086/381590>
8. Bloomfield SF, Aiello AE, Cookson B, O'Boyle C, Larson EL. The effectiveness of hand hygiene procedures in reducing the risks of infections in home and community settings including handwashing and alcohol-based hand sanitizers. *Am J Infect Control.* 2007;35 (10 Suppl 1):S27-64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2007.07.001>
9. Kagan LJ, Aiello AE, Larson E. The role of the home environment in the transmission of infectious diseases. *J Community Health.* 2002;27(4):247-67. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1016378226861>
10. Barker J, Stevens D, Bloomfield SF. Spread and prevention of some common viral infections in community facilities and domestic homes. *J Appl Microbiol.* 2001;91(1):7-21. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01364.x>
11. Kitamo M, Kito K, Niimi Y, Shoda S, Takamura A, Hiramatsu T et al. Food poisoning by *Staphylococcus aureus* at a university festival. *Jpn J Infect Dis.* 2009;62(3):242-3.
12. Ministério da Saúde (BR). Portaria N°15, de 23 de agosto de 1988. Determina que o registro de produtos saneantes domissanitários com finalidade antimicrobiana seja procedido de acordo com as normas regulamentares. *Diário Oficial da União.* 5 set 1988.
13. Secretaria da Receita Federal do Brasil. Decreto n° 350, de 21 de novembro de 1991. Promulga o Tratado para a Constituição de um Mercado Comum entre a República Argentina, a República Federativa do Brasil, a República do Paraguai e a República Oriental do Uruguai (Tratado Mercosul). Brasília, DF: Ministério da Fazenda, 1991 [acesso em: 1 dez 2013]. Disponível em: <http://www.receita.fazenda.gov.br/Legislacao/AcordosInternacionais/AcordosCooperacaoAduaneira/Mercosul/Dec35091.htm>
14. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC N° 14, de 28 de fevereiro de 2007. Aprova o regulamento Técnico para Produtos Saneantes com Ação Antimicrobiana harmonizado no âmbito do Mercosul através da Resolução GMC nn° 50/05, que consta em anexo à presente Resolução. *Diário Oficial da União.* 5 mar 2007.



15. Tomasino S. Disinfectants. In: Latimer Jr GW, Horwitz W, editors. Official methods of analysis. 18th ed. rev. 2. Rockville: Association of Official Analytical Chemists; 2007.
16. European Committee for Standardization. EN 1276:2009. Chemical disinfectants and antiseptics: quantitative suspension test for the evaluation of bactericidal activity of chemical disinfectants and antiseptics used in food, industrial, domestic and institutional areas: test method and requirements (phase 2, step 1). Brussels: European Committee for Standardization; 2009.
17. European Committee for Standardization. EN 14885:2006. Chemical disinfectants and antiseptics: application of European Standards for chemical disinfectants and antiseptics. Brussels: European Committee for Standardization; 2006.
18. Larson E, Aiello AE. Systematic risk assessment methods for the infection control professional. Am J Infect Control. 2006;34(5):323-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajic.2005.10.009>
19. Barker J, Bloomfield SF. Survival of *Salmonella* in bathrooms and toilets in domestic homes following salmonellosis. J Appl Microbiol. 2000;89(1):137-44. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.01091.x>
20. Tomasino SF, Fiumara RM, Cottrill MP. Enumeration procedure for monitoring test microbe populations on inoculated carriers in AOAC use-dilution methods. J AOAC Int. 2006;89(6):1629-1634.
21. Arlea C, King S, Bennie B, Kemp K, Mertz E, Staub R. Modifications to the AOAC use-dilution test for quaternary ammonium compound-based disinfectants that significantly improve method reliability. J AOAC Int. 2008;91(1):152-8.
22. Tomasino S. Disinfectants. In: Latimer Jr GW, Horwitz W, editors. Official methods of analysis. 18th ed. rev. 3. Rockville: Association of Official Analytical Chemists; 2010.
23. Rutala WA. APIC Guideline for selection and use of disinfectants. Am J Infect Control. 1996;24(4):313-42. [http://dx.doi.org/10.1016/S0196-6553\(96\)90065-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0196-6553(96)90065-6)

Agradecimentos

Ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), pelo apoio financeiro e estrutural. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes), pelo apoio financeiro (bolsa mestrado).



Esta publicação está sob a licença Creative Commons Atribuição 3.0 não Adaptada.
Para ver uma cópia desta licença, visite http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR.